

장기간 호밀을 풋거름작물로 시용한 유기농 토양의 생물학적 특징*

백계령** · 이계준*** · 김태영*** · 지삼녀*** · 김창석*** · 이형복*** · 이은경*** · 송재경****

Biological Characteristics of Organic Soil applying Rye (*Secale cereal* L.) as Green Manure for the Long Term

Bak, Gye-Ryeong · Lee, Gye-Jun · Kim, Tae-Yeong · Jee, Sam-Nyu ·
Kim, Chang-Seok · Lee, Hyeong-Bok · Lee, Eun-Kyeong · Song, Jae-Kyeong

In this study, microorganism community characteristics of organic managed soil which applied rye (*Secale cereal* L.) as green manure for 25 years, were determined. The chemical properties of organic soil showed high level of organic matter and available P₂O₅, while the level of exchangeable cation was low. The analysis of dehydrogenase activity and carbon source utilization indicated that the values in on organic soil were significantly higher than those of the control. It suggested that the microorganism community of organic soil had high microorganism activity, compared to the control. In addition, when the 16S rRNA gene-targeted NGS (Next generation sequencing) analysis was conducted to estimate the class of bacterial community, the class level of bacterial taxon composition on organic soil showed higher portion of *Sphingobacteriia*, *Acidobacteriia*, *Gamma-proteobacteria*, *Solibacteres* and *Planctomycetia*. By base on the results of various reports in which organic managed soil had high portion of *Acidobacteriia* and *Planctomycetia*, the characteristic of taxon composition in organic soil, which showed the high percentages of *Ktedonobacteria*, *Sphingobacteriia*, *Acidobacteriia* and *Gammaproteobacteria*, was resulted from the application of rye as a green manure for the long term. However, further researches were needed because the crop effect was not considered in this study.

Key words : green manure, organic soil, soil microorganism community

* 이 논문은 농촌진흥청 국립식량과학원의 작물시험연구사업(과제번호 : PJ011259032017)의 지원에 의해 이루어진 것임.

** Corresponding author, 농촌진흥청 국립식량과학원 고령지농업연구소(bgl1228@korea.kr)

*** 농촌진흥청 국립식량과학원 고령지농업연구소

**** 농촌진흥청 국립농업과학원 농업생물부

I. 서 론

화학비료와 농약, 그리고 생산성 높은 품종개발로 농업은 발전하였고 식량 생산량도 크게 증가하였다. 그러나 장기간 수탈농업과 지나친 비료, 농약 사용 등으로 인하여 생산성 감소와 생태계 악화 등의 문제가 발생하였고(Hartmann et al., 2015), 현재는 다양성을 보존하고 안정적이고 건강한 식량생산을 위해서 지속 가능한 농업의 중요성이 강조되고 있다. 유기농업은 화학비료, 유기합성 농약, 제초제를 비롯한 합성화학 물질을 사용하지 않고 유기물과 미생물을 포함한 자연적인 자재를 사용하여 작물을 재배하는 것으로 주로 생태계의 순환과정을 통해 토양관리를 수행한다. 유기농업 시스템으로 토양을 관리할 경우 일반적으로 미생물 생체량, 활성도, 그리고 다양성이 증가하며, 양분순환과 관련된 종을 포함한, 작물 생육에 유익한 효과를 주는 종이 증가하였다는 보고가 있었다(Mendes et al., 2015; Lupatini et al., 2017; Takahashi et al., 2018). 미생물은 토양 중에서 양분순환을 원활하게 하고 작물과의 공생관계를 형성함으로써 작물생육에 직·간접적으로 관여하고(Park et al., 2016)있으며 외부환경, 유기농자재의 종류나 토양 관리방법에 따라 토양 미생물군집의 특징은 달라진다. 특히 미생물군집의 경우 매우 복잡하고 토양의 생물학적 특징도 시간 의존성이 강하여 분석하기가 쉽지 않다. 이런 이유로 토양 생물상과 관련된 연구는 그 성과가 미비한 실정이다. 국내에서도 유기농업을 선호하는 농가가 증가하고 있으며, 유기농 재배지의 토양 특성과 관련하여 물리·화학적 특성 중심으로 연구가 활발하게 수행되고 있다(Lee et al., 2017). 유기농 토양의 토양 생물상과 관련된 연구도 국내외적으로 수행되었으나(Ling et al., 2016; Park et al., 2016), 장기간 호밀을 풋거름작물로 시용하였을 경우 토양의 미생물상 변화에 대한 연구는 아직 수행된 바가 없다. 풋거름작물은 후작물이 이용할 수 있는 질소를 공급할 뿐 아니라 토양 물리성을 개선시키고 유기물을 공급하여 생물 다양성을 증진시켜 줌으로써 토양 건전성을 증대시켜 준다(Choi et al., 2010). 오염된 토양에서 미생물의 양은 오염되지 않은 토양과 비교하여 20~50% 감소하므로 미생물 생체량은 토양건전성을 나타내는 지표로 활용될 수 있다(Stockdale and Brookes, 2006). 호밀은 내한성이 높고 건물 생산량이 많아 국내에서 잡초방제 및 풋거름작물로 널리 활용되고 있는 작물이다(Lee et al., 2010). 본 연구에서는 25년간 호밀을 풋거름작물로 시용하여 토양관리를 수행한 고랭지 토양에 대하여 탈수소효소 활성법, Biolog사에서 제조한 Ecoplate를 이용한 탄소원 이용도 분석법, 그리고 분자생물학적 방법 중 하나인 메타게놈분석을 통해 해당 토양 미생물군집의 특징을 구명하여 유기농업에서 호밀을 시용하여 토양관리를 하였을 경우 형성된 토양 미생물군집의 특성을 밝히고자 한다.

II. 재료 및 방법

1. 대상토양의 특성

본 연구의 대상 시료는 1991년 이후 27년 동안 농약, 화학비료 그리고 항생제 등의 화학 합성물질을 사용하지 않고 풋거름작물로 호밀을 파종하여 토양을 관리하고 있는 강원도 평창군 미탄면에 위치한 청옥산의 육백마지기 농장을 대상으로 2017년 7월에 로터리 작업 후 작물파종 전에 채취하였다. 청옥산 육백마지기 농장은 강원도의 대표적인 고랭지에 위치한 농장 중 하나이며 해발 1,200 m에 위치해있다. 대상 토양은 무를 재배하는 경작지로 매년 작물 수확 후에 풋거름작물로 호밀을 파종하여 이듬해 7월경 호밀 생육이 최성기에 이를 때 호밀을 절단 후 로터리경운을 수행하였다. 대조구로 쓰인 토양은 육백마지기 농장에서 2017년 봄에 토양관리를 하지 않은 청옥산의 토양을 가져와 비닐하우스에서 퇴비를 섞어놓고 약 두 달이 지난 후 사용하였다.

2. 토양시료의 채취 및 토양화학성 분석

토양시료는 포스트 홀 핸드 오거(auger)를 사용하여 표토(5~20 cm) 부분의 토양을 채취하였다. 시험포장에서 5지점의 토양을 채취하여 시료봉투에 넣은 후 균일하게 혼합하여 시험에 사용하였다. 대조구의 토양 또한 퇴비와 섞여있는 토양을 5지점에서 일정량씩 채취하여 시료봉투에 넣은 후 혼합하였다. 토양화학성 분석을 위해 채취한 시료는 2일간 음건한 후 2 mm 체로 쳐서 준비하였으며, 분석항목은 pH, 유기물함량, 유효인산(Av. P_2O_5), 치환성 양이온(K, Ca, Mg), EC였다. 분석방법은 농업과학기술원 토양 및 식물체 분석법(NIAST, 2002)에 준하여 pH와 EC는 초자전극법, 유기물함량은 CN분석기(Vario Max Cube elementar, Hanau, Germany)로 탄소함량을 측정 후 환산하였고, 유효인산함량은 Lancaster 방법에 따라 UV 720 nm에서 측정(UV/VIS spectrometer, Lambda 25, PerkinElmer Co., Norwalk, CT, USA)하였으며, 치환성 양이온함량은 1M의 NH_4OAc 추출액으로 침출하여 유도결합질량분석기(Inductively Coupled Plasma Spectrometer, Optima 2100DV, PerkinElmer Co.)로 분석하였다.

3. 토양미생물활성

시험토양의 미생물활성도는 triphenyltetrazolium chloride를 기질로 사용하는 탈수소효소 활성법(Dehydrogenase activity analysis)을 이용하여 측정하였다. 채취한 토양시료는 만 24시간 동안 음건한 후 2 mm 체로 쳐서 준비하였다. 토양시료 6 g과 $CaCO_3$ 0.06 g을 혼합한 후 1 ml의 3% TTC (2,3,5-Triphenyltetrazolium)용액과 2.5 ml의 증류수를 가하였다. 시료와 용액

을 잘 섞어준 후 37°C에서 24시간 배양 후 메탄올을 Whatman No.2 여과지에 여과시켜 100 ml의 여과액을 추출하였다. 여과된 메탄올 용액을 485 nm (UV/VIS spectrometer, Lambda 25, Perkinelmer Co., Norwalk, CT, USA)에서 측정하여 24시간 동안 탈수소효소에 의해 환원된 TPF (1,3,5-triphenylformazan)의 값으로 환산하였다.

4. Community-level physiological profiling (CLPP) 분석

시험포장의 토양 미생물군집 분석에는 서로 다른 31종의 기질과 기질이 들어있지 않은 1개를 포함하여 총 32개가 3 set씩 건조되어 96 well plate에 채워져 있는 Biolog사의 Ecoplate (Biolog Inc., Hayward, CA)를 이용하였다. 각각의 well에 토양시료와 멸균수를 1:10 (w/w)의 비율로 희석한 현탁액을 10배 희석하여 150 µL씩 접종한 후 25°C에서 배양하면서 12시간에 한번씩 96-well plate를 590 nm의 파장에서 흡광도를 측정하였다. 측정한 흡광도 값으로 아래의 계산식을 이용하여 Average well color development (AWCD) 값을 산출하였다.

$$AWCD = \sum(C-R)/n \quad (1)$$

C : 각 well의 OD590 nm 값

R : Control well의 OD590 nm 값

N : 기질의 수(31)

5. 토양 DNA 추출 및 미생물군집 분석

채취한 토양시료는 24시간이 지나기 전 ISOIL II DNA 추출 kit (Nippongen, Japan)를 사용하여 제조사의 방법에 따라 토양 DNA를 추출하였다. 추출한 DNA는 시퀀싱 분석을 의뢰하기 전까지 -20°C 냉동고에서 보관하였다. 해당 토양의 미생물군집 분석은 천랩(Chunlab)에 의뢰하였으며 16S rRNA의 V3와 V4 영역을 universal primer인 341F (5'-TCGTCGGCAGC GTC-AGATGATGTGTATAAGAGACAG-CCTACGGGNGGCWGCAG-3')와 805R (5'-GTCTCG TGGGCTCGG-AGATGTGTATAAGAGACAG-GACTACHVGGGTATCTAATCC-3')를 이용하여 증폭한 PCR amplicon을 template로 하여 차세대 염기서열 분석을 수행하기 위한 바코딩 작업을 Illumina의 Nextera barcode를 이용하여 수행하였다. PCR product는 CleanPCR (CleanNA)을 통해 불필요한 fragments를 제거하는 정제과정을 거친 후 Illumina의 Miseq 플랫폼 장비 (Illumina, USA)를 통해 시퀀싱 데이터를 얻었다. 분석된 시퀀싱 데이터는 천랩에서 제공하는 분석 플랫폼인 EzBioCloud와 BIOiPLUG™을 이용하였다. 해당 플랫폼은 USEARCH (8.1.1861_i86linux32)를 통해 taxonomic assignment를 수행할 수 있도록 시퀀싱 데이터를 데이터베이스화한 것으로 미생물학 분야에서 공인된 생물정보데이터를 기반으로 하고 있다.

6. 통계분석

토양 화학성 결과 및 미생물활성도 결과 분석에 대한 유의성 검정은 SASS 프로그램을 이용하였다. 유기농 토양과 대조 토양의 분석을 각각 3반복씩 수행하여 평균값을 구하였으며, 평균값에 대한 t-검정을 실시하여 유의수준 0.05에서 비교·분석하였다.

Ⅲ. 결과 및 고찰

25년간 호밀을 풋거름작물로 사용한 유기농 토양과 대조 토양의 화학성 분석 결과는 Table 1과 같다. 유기농 토양의 경우 유기물과 유효인산함량이 정상범위보다 약간 높았고 치환성 양이온은 정상범위보다 낮았으며 0.3의 낮은 전기전도도를 나타내었다. 전반적으로 유기농 토양이 대조 토양보다 유기물(O.M.), 유효인산(P₂O₅)의 수치가 높았으며 치환성 양이온의 경우 K과 Ca은 유기농 토양이 높았으나 Mg은 대조 토양이 약간 높은 수치를 보였다. 5% 수준에서 유의성 검정을 수행한 결과 유효인산의 경우 유기농 토양에서 유의하게 높았으나 유기물의 경우 유의한 차이를 보이지 않았다. 두 토양 모두 pH는 약산성으로 유기농 토양의 pH가 5.8로 대조 토양의 pH인 5.5 보다 약간 높았다. 토양 내의 염도를 나타내는 전기전도도 수치는 대조 토양이 유기농 토양보다 5배 이상 높은 수치를 보였지만 2 ds/m 이내의 정상범위 수준이었다.

Table 1. Soil chemical properties of long-term organic soil and control

Soil condition	pH (1:5)	O.M. (g/kg)	P ₂ O ₅ (mg/kg)	K	Ca	Mg	EC (dS/m)
				cmol/kg			
Organic soil	5.8 ^a	44.0 ^a	654.8 ^a	0.8 ^a	3.4 ^a	0.7 ^a	0.3 ^b
Control	5.5 ^b	32.8 ^a	404.9 ^b	0.7 ^b	3.2 ^b	0.9 ^b	1.7 ^a
Optimum range	6.0~6.5	20~30	300~500	0.5~0.6	5.0~6.0	1.5~2.0	Below 2.0

T-test was conducted on significant level of $\alpha=0.05$

유기물이 부숙과정을 거친 후 이를 토양 내에서 식물과 미생물이 이용하므로 미생물 활성도는 토양 내 부식 및 유기물 함량과 밀접한 관련이 있다. 토양 화학성 분석 결과 유기물 함량은 유기농법을 실시한 토양이 대조 토양보다 약간 높았지만 유의한 차이는 보이지 않았다. 그러나 미생물 활성도를 측정하는 탈수소효소 활성분석(Dehydrogenase activity analysis) 결과 유기농 토양의 미생물 활성도가 대조 토양보다 높은 활성을 나타냈다(Fig. 1). 장기간

호밀을 풋거름작물로 사용한 유기농 토양에서 현저하게 높은 탈수소효소 활성 값을 보인 실험 결과는 풋거름 작물을 사용하였을 경우 탈수소효소 활성이 증가하였다는 이전 연구와도 일치한다(Stark et al., 2007). 또한 미생물 활성도는 미생물 생체량과도 관련이 있는데 Choi 등(2010)의 연구에서도 풋거름작물을 사용했을 때 토양 미생물 생체량이 현저히 증가하였다는 보고가 있었으므로 풋거름작물의 사용은 미생물 활성을 증진시키는데 효과적이라고 생각된다.

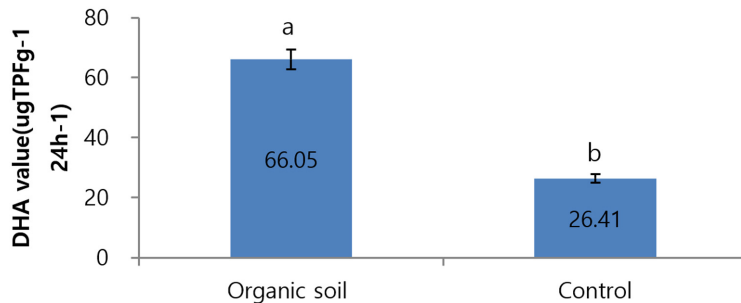


Fig. 1. Dehydrogenase activity value of the organic soil and control.

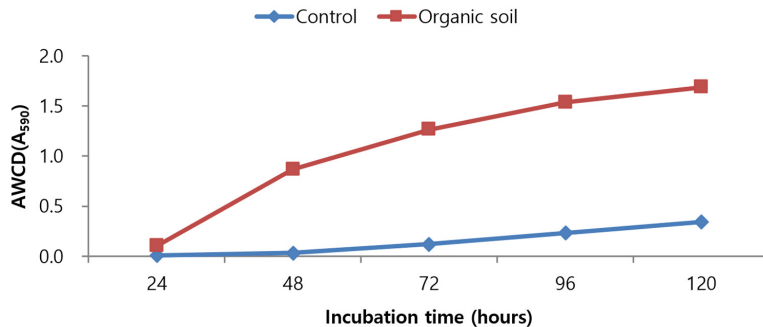


Fig. 2. Average well color development (AWCD) of community level physiological profiles (CLPP) under the organic soil and control after incubation in BIOLOG Ecoplates.

Polymer, Carbohydrate, Carboxylic acid, Phenolic compound, Amino acid, Amin 그룹의 총 31개의 기질에 대한 미생물군집의 이용도를 측정함으로써 미생물 활성과 다양성을 나타내는 또 다른 지표인 community level physiological profiles (CLPP) 분석에서도 위 결과를 뒷받침하는 결과를 얻을 수 있었다. 시간에 따른 31개 기질의 평균 이용도는 측정하였던 모든 시점에서 유기농 토양이 대조 토양보다 유의하게 높은 수치를 보였으며(Fig. 2), 배양 후 120시간이 지난 시점에서 측정된 탄소원 이용도 또한 31개의 모든 기질이용도가 유기농 토양이 대조 토양보다 높은 것을 확인할 수 있었다(Table 2). 특히 대조 토양에서는 polymer와 amine 계

열에 속하는 모든 기질에 대한 이용도가 OD값 0.5 미만으로 매우 낮은 수치를 보였다.

Table 2. Substrate utilization after 120 hours under organic soil and control (OD < 0.5: -, 0.5 < OD < 1.0: +, 1.0 < OD < 1.5: ++, 1.5 < OD < 2.0: + + +, OD > 2.0: + + + +)

Substrate		Organic soil	Control
Polymer	Tween 40	++++	-
	Tween 80	++++	-
	α -Cyclodextrin	-	-
	Glycogen	-	-
Carbohydrate	D-Cellobiose	++++	++
	α -D-Lactose	++++	-
	β -Methyl-D-Glucoside	++++	-
	D-Xylose	+++	-
	i-Erythritol	++	-
	D-Mannitol	++++	-
	N-Acetyl-D-Glucosamine	++++	+
	Glucose-1-Phosphate	++	-
	D,L- α -Glycerol Phosphate	+	-
	D-Galactonic Acid γ -Lactone	++++	-
Carboxylic acid	Pyruvic Acid Methyl Ester	++++	++
	D-Galacturonic Acid	++++	+
	D-Glucosaminic Acid	+++	+
	γ -Hydroxybutyric Acid	+	+
	Itaconic Acid	++	-
	α -Ketobutyric Acid	++++	-
	D-Malic Acid	++++	+
Phenolic compound	2-Hydroxy Benzoic Acid	-	-
	4-Hydroxy Benzoic Acid	++	+
Amino acid	L-Arginine	++++	-
	L-Asparagine	++++	+
	L-Phenylalanine	++++	-
	L-Serine	++++	+
	L-Threonine	++	-
	Glycyl-L-Glutamic Acid	++	-
Amine	Phenylethylamine	-	-
	Putrescine	+++	-

16S rRNA 영역을 타겟으로 하여 NGS(차세대 염기서열) 분석을 수행한 결과 Class 수준에서 유기농 토양과 대조 토양의 세균군집의 특징은 Fig. 3과 같다. *Bacilli*, *Gemmatimonadetes*, *Alphaproteobacteria*, *Betaproteobacteria*, *Phycisphaerae*가 두 토양에서 비슷한 백분율을 보였으며, *Sphingobacteriia*, *Acidobacteriia*, *Gammaproteobacteria*, *Solibacteres*, *Planctomycetia*는 유기농 토양에서 대조 토양보다 30% 이상 많은 백분율을 차지하고 있는 class였다. 특히 *Ktedonobacteria* class는 유기농 토양에서만 확인되었으며 6.13%의 상당히 높은 비율을 차지하고 있었다. *Actinobacteria_c*, *Acidobacteria* phylum에 속하는 *CP015136_c*, *Blastocatellia*, *Deltaproteobacteria*, *Spartobacteria*는 대조 토양에서 더 많은 비율을 차지하고 있었으며, *Chloroflexia*, *Thermoleophilia*, *Fusobacteria_c*에 속하는 class들이 2% 정도씩 대조 토양에서만 발견됐다. 토양 미생물군집은 토양 관리 방법, 주변환경 그리고 토성에 영향을 크게 받으며 토양미생물 군집과 그들의 관계를 밝히기 위한 연구도 많이 수행되고 있다(Stark et al., 2007; Banerjee et al., 2016; Elizabeth et al., 2018; Oberholster et al., 2018). 헤어리벳치 등의 풋거름작물로 토양을 관리하고 유기농법을 수행하고 있는 토양을 대상으로 미생물군집에 대한 연구를 수행한 결과 모든 토양에서 우점하고 있는 세균 phylum은 *Acinobacteria*, *Proteobacteria*, *Acidobacteria*, *Gemmatimonadetes*였다(Longa et al., 2017). 관행농법을 수행하고 있는 토양과 비교하여 유기농법으로 토양을 관리하고 있는 토양에 대한 미생물군집 연구를 수행한 또 다른 연구에서도 유기농법을 수행한 토양에서는 *Acidobacteria*, *Planctomycetes*가 *Proteobacteria*, *Euryarchaeota*가 상대적으로 높은 비율을 차지하고 있었다(Lupatini et al., 2017). 또한 Toda와 Uchida의 연구(2017)에서는 헤어리벳치를 풋거름 작물로 9년 동안 사용했던 토양에 대한 미생물군집 분석 결과 *Acidobacteria*, *Gemmatimonadetes*, *Proteobacteria*가 증가하여 본 연구의 시험결과와 일치하는 경향을 보였다. 그러므로 대상 토양의 증가된 *Acidobacteria*와 *Planctomycetes*는 장기간 유기농법으로 토양을 관리하였기 때문으로 생각되며, 유기농 토양에서만 높은 비율로 발견된 *Ktedonobacteria*와 상대적으로 증가한 비율의 *Gammaproteobacteria*, *Sphingobacteriia*와 *Solibacteres*는 본 연구의 대상토양의 특징으로 판단되지만 이들 class의 증가가 호밀의 영향인지 작물의 영향인지에 대해서는 후속 연구가 필요하다. 두 토양의 군집 다양성을 비교하기 위해 richness indicator인 ACE, Chao1과 evenness indicator인 Shannon과 Simpson index를 Table 3에 나타내었다. 두 토양의 richness index는 두 지표 모두 대조 토양이 유기농 토양보다 약 33% 더 높은 수치를 보였으며, evenness index는 Shannon index는 대조 토양이 약간 높았으나 Simpson index는 같은 값을 나타냈다. 그러므로 대상 유기농 토양은 대조 토양에 비해 분포하고 있는 미생물 군이 특정 종이 치우쳐져 있는 성향을 보이는 것으로 추측할 수 있다. 유기농 토양은 25년 동안 호밀을 풋거름작물로 사용하는 동일 토양관리를 해왔으므로 그 과정에서 특정한 토양 미생물군집이 형성된 것으로 생각되며, 그 토양 미생물군집은 일반 농경지 토양보다 높은 미생물 활성도를 가지고 있는 것으로 판단된다. 특정 토양 병해의 발병을 억제하는 억제성 토양(suppressive soil)

이 관행 토양과 비교하여 다른 토양 미생물군집 양상을 보이고(Wu et al., 2017), 토양 미생물군집이 양분 흡수와도 밀접한 관련성을 보이므로(Feng et al., 2017) 토양 미생물군집 연구결과를 활용하면 유기농법을 수행하면서 보다 안정적인 농산물 생산이 가능할 것으로 기대된다.

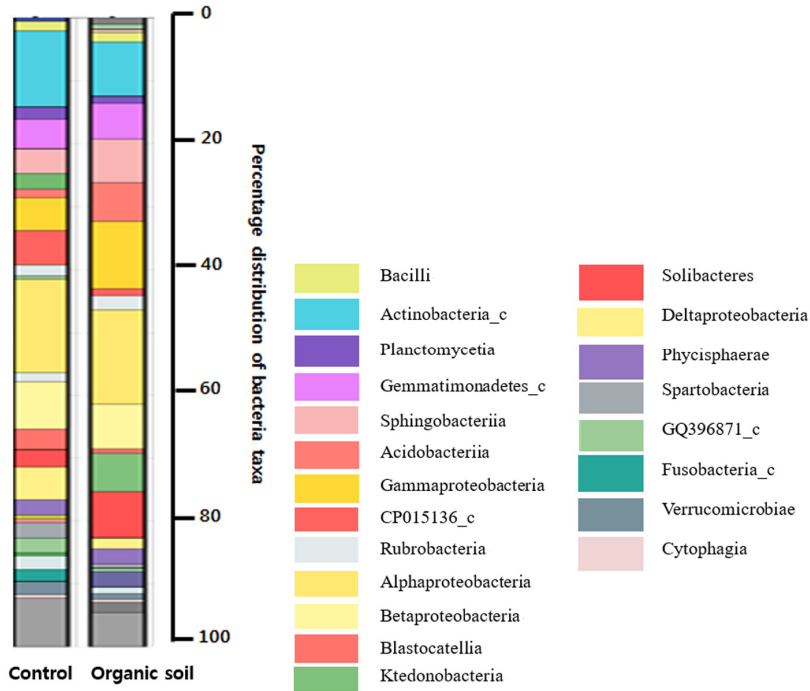


Fig. 3. Distribution of bacterial classes in the bacterial communities of Control (left) and Organic soil (right).

The percentages of each bacterial class are described as the length of each color bar. The detail information of bacterial classes in samples is shown in Table S1.

Table 3. Microorganism community α -diversity index of organic soil and control

α -diversity		Organic Soil	Control
Total valid reads ^{*1}		30347	31010
Species richness indicator	ACE	3154.1	4050.9
	Chao1	3057.6	3920.6
Species evenness indicator	Shannon	6.881	7.314
	Simpson	0.003	0.003

^{*1} Total valid reads: The number of reads after excluding non-specific amplicons

[Submitted, April. 10, 2018 ; Revised, May. 29, 2018 ; Accepted, July. 2, 2018]

References

1. Bach, E. M., R. J. Williams, S. K. Hargreaves, F. Yang, and K. S. Hofmockel. 2018. Greatest soil microbial diversity found in micro-habitats. *Soil Biology and Biochemistry*. 118: 217-226.
2. Banerjee, S., C. A. Kirkby, D. Schmittner, A. Bissett, J. A. Kirkegaard, and A. E. Richardson. 2016. Network analysis reveals functional redundancy and keystone taxa amongst bacterial and fungal communities during organic matter decomposition in an arable soil. *Soil Biology and Biochemistry*. 97: 188-198.
3. Choi, B. S., J. A. Jung, M. K. Oh, S. H. Jeon, Y. S. Ok, and J. K. Sung. 2010. Effects of Green Manure Crops on Improvement of Chemical and Biological Properties in Soil. *Korean journal of Soil Science and fertilizer*. 43(5): 650-658.
4. Feng, C., P. Guan, M. Youzhi, L. Ruixia, L. Rong, S. Qirong, and C. Wei. 2017. The nutrient preference of plants influences their rhizosphere microbiome. *Applied Soil Ecology*. 110: 146-150.
5. Hartmann, M., B. Frey, J. Mayer, P. Mäder, and F. Widmer. 2015. Distinct soil microbial diversity under long-term organic and conventional farming. *The ISME Journal*. 9: 1177-1194.
6. Lee, B. M., J. H. Lee, Y. J. Oh, S. B. Lee, C. K. Kang, H. J. Jee, and J. H. Lee. 2010. Weed Occurrence as Influenced by Living Mulch, Soil Incorporation and Cutting Treatment of Rye in Organic Soybean Field *Korean Journal of Weed Science*. 30(2): 164-170.
7. Lee, C. R., J. H. Ok, M. S. An, S. B. Lee, K. L. Park, S. G. Hong, M. G. Kim, and C. B. Park. 2017. Soil Chemical Properties of Long-term Organic Cultivation Upland. *Korean journal of Organic Agriculture*. 25(1): 161-170.
8. Ling, N., C. Zhu, C. Xue, H. Chen, Y. Duan, C. Peng, S. Guo, and Q. Shen. 2016. Insight into how organic amendments can shape the soil microbiome in long-term field experiments as revealed by network analysis. *Soil Biology and Biochemistry*. 99: 137-149.
9. Longa, C. M. O., L. Nicola, L. Antonielli, E. Mescalchin, R. Zanzotti, E. Turco, and I. Pertot. 2017. Soil microbiota respond to green manure in organic vineyards. *Journal of Applied Microbiology*. 123: 1547-1560.
10. Lupatini, M., G. W. Korthals, M. D. Hollander, K. S. Janssens, and E. E. Kuramae. 2017.

- Soil Microbiome Is More Heterogeneous in Organic Than in Conventional Farming System. *Frontiers in Microbiology*. 7(2064).
11. Mendes, L. W., S. M. Tsai, A. A. Navarrete, M. D. Hollander, J. A. V. Veen, and E. E. Kuramae. 2015. Soil-Borne Microbiome: Linking Diversity to Function. *Microbial Ecology*. 70(1): 255-265.
 12. Oberholster, T., S. Vikram, D. Cowan, and A. Valverde. 2018. Key microbial taxa in the rhizosphere of sorghum and sunflower grown in crop rotation. *Science of The Total Environment*. 624: 530-539.
 13. Park, K. L., Y. Suga, S. G. Hong, C. R. Lee, M. S. Ahn, S. C. Kim, and T. Hashimoto. 2016. Study on Characteristics of Chemical Properties and Microbial Flora of Organic Farming Soil in Korea. *Journal of the Korea Organic Resources Recycling Association*. 24(4): 77-83.
 14. Stark, C., L. M. Condon, H. J. Di, A. Stewart, and M. O'Callaghan. 2007. Influence of organic and mineral amendments on microbial soil properties and processes. *Applied Soil Ecology*. 35(1): 79-93.
 15. Stockdale, E. A. and P. C. Brookes. 2006. Detection and quantification of the soil microbial biomass-impacts on the management of agricultural soils. *The Journal of Agricultural Science*. 144(4): 285-302.
 16. Takahashi, H., Y. Matsushita, T. Ito, Y. Nakai, M. Nanzyo, T. Kobayashi, S. Iwaishi, T. Hashimoto, S. Miyashita, T. Morikawa, S. Yoshida, S. Tsushima, and S. Ando. 2018. Comparative analysis of microbial diversity and bacterial seedling disease-suppressive activity in organic-farmed and standardized commercial conventional soils for rice nursery cultivation *Journal of Phytopathology*. 166: 249-264.
 17. Toda, M. and Y. Uchida. 2017. Long-term use of green manure legume and chemical fertiliser affect soil bacterial community structures but not the rate of soil nitrate decrease when excess carbon and nitrogen are applied. *Soil research*. 55(6): 524-533.
 18. Wu, X., L. Rong, R. Yi, L. Chen, Z. Qingyun, W. Huasong, J. Alexandre, and S. Qirong. 2017. Distinct roles for soil fungal and bacterial communities associated with the suppression of vanilla *Fusarium* wilt disease. *Soil Biology & Biochemistry*. 107: 198-207.